

003451947

WPI Acc No: 1982-05755J/ 198249

Sterilising compsn. for cooking utensils etc. - contains organic acid, inorganic salt, ethanol and sodium or thiamine lauryl sulphate

Patent Assignee: NAKANO VINEGAR CO LTD (NAKA-N)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
-----------	------	------	-------------	------	------	------

JP 57176903	A	19821030	JP 8162017	A	19810424	198249
-------------	---	----------	------------	---	----------	--------

JP 89059862	B	19891220			199003	
-------------	---	----------	--	--	--------	--

Priority Applications (No Type Date): JP 8162017 A 19810424

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 57176903	A		6		

Abstract (Basic): JP 57176903 A

Steriliser comprises (a) an organic acid, (b) an inorganic salt, (c) ethyl alcohol and (d) Na lauryl sulphate (SLS) or thiamine lauryl sulphate (TLS).

Pref. (a) is vinegar, acetic acid, monosodium fumarate, citric acid and tartaric acid. Pref. (b) is NaCl. Pref. compsn. is (a):(b):(c) 1:0.33-27 (partic. 0.33-3):2.2-3980 (partic. 20-180) (by wt.). Upon use, the compsn. is diluted with water so as to contain 0.001-0.1 wt.% of (a), 0.01-1 wt.% of (b), 0.02-2 wt.% of (c) and 10-250 ppm of (d) SLS or TLS.

A combination use of a sterilising compsn. (a) (b) (c) and SLS or TLS brings about synergistically improved bactericidal effect so that the available concn. of each component (a)-(d) can be reduced to such that cannot exert bactericidal activity when used alone. The sterilisers are suitable for sterilising foodstuffs and cooking tools.

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **57176903 A**

(43) Date of publication of application: **30.10.82**

(51) Int. Cl

A01N 59/08
/(A01N 59/08 , A01N 37/00 , A01N
31/00 , A01N 41/04 , A01N 43/78)

(21) Application number: **56062017**

(22) Date of filing: **24.04.81**

(71) Applicant: **NAKANO VINEGAR CO LTD**

(72) Inventor: **WATANABE ATSUSHI**
OYAMA NAOTAKE

(54) IMPROVED STERILIZING COMPOSITION

(57) Abstract:

PURPOSE: The titled composition, capable of exhibiting a synergistic effect by mixing a composition consisting of an organic acid, an inorganic salt and ethyl alcohol with sodium lauryl sulfate, etc. and exhibiting improved sterilizing ability at a low concentration, and useful for sterilizing food, drink, etc.

CONSTITUTION: A composition containing 1pt.wt. organic acid, e.g. vinegar or acetic acid, 0.33W3pts.wt. inorganic salt, e.g. NaCl or KCl, and 20W180pts.wt. C₂H₅OH is mixed with an adequate amount of sodium

lauryl sulfate (abbreviated so SLS) or thiamine lauryl fulfate salt (abbreviated to TLS) to prepare a stock solution, which is then diluted with water. The concentrations of the respective components after the dilution are preferably as follows: 0.001wt% organic acid, 0.1W1wt% inorganic salt, 0.02W2wt% C₂H₅OH and 10W250ppm SLS or TLS. The resultant composition is effective against both Gram-positive and Gram-negative bacteria, and used for sterilizing cooking utensils, particularly for washing soft fruits and tools, e.g. chopping boards, kitchen knives or discloth, which are frequently used.

COPYRIGHT: (C)1982,JPO&Japio

① 日本国特許庁 (JP)
② 公開特許公報 (A)

③ 特許出願公開
昭57—176903

④ Int. Cl.³
A 01 N 59/08
// (A 01 N 59/08
37/00
31/00
41/04
43/78)

識別記号

庁内整理番号
7731—4H

6526—4H
6526—4H
7144—4H

⑤ 公開 昭和57年(1982)10月30日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 6 頁)

⑥ 改良された殺菌用組成物

⑦ 特 願 昭56—62017

⑧ 出 願 昭56(1981)4月24日

⑨ 発 明 者 渡辺篤

半田市長根町3丁目1番地県営
長根住宅11棟306号

⑩ 発 明 者 大山尚毅

愛知県知多郡東浦町大字藤江字
樋85番地12

⑪ 出 願 人 株式会社中埜酢店

半田市中村町2丁目6番地

⑫ 代 理 人 弁理士 久保田藤郎

明 細 書

1. 発明の名称

改良された殺菌用組成物

2. 特許請求の範囲

(a)有機酸類, (b)無機塩類, (c)エチルアルコール
および(d)ラウリル硫酸ナトリウムまたはチアミン
ラウリル硫酸塩よりなる改良された殺菌用組成物。

3. 発明の詳細な説明

本発明は殺菌用組成物に関し、さらに詳しくは
有機酸類, 無機塩類およびエチルアルコールからな
る組成物にラウリル硫酸ナトリウム(以下、SLS
と略称する。)またはチアミンラウリル硫酸塩
(以下、TLSと略称する。)を配合することによ
って殺菌力の著しく改善された殺菌用組成物に関
するものである。

すでに本出願人は、飲食品, 調理器具等の殺菌
に有用な殺菌用組成物として酢酸, クエン酸, コ
ハク酸, リンゴ酸, 食酢などの有機酸の1種もし
くは2種以上とNaCl, KCl, MgCl₂, CaCl₂などの無

機塩類とエチルアルコールなどのアルコール類を
混合してなる殺菌用組成物を開発している(特開
昭54-145234号)。

また、特公昭51-45660号公報には有機
酸とそのアルカリ金属塩を混合したかんきつ類の
果実の貯蔵病害防除剤が開示され、さらに特公昭
36-3482号公報には有機酸または無機酸に
界面活性剤とブタノールを混合した酸性洗浄剤が
記載されている。そのほか、特公昭55-16614
号公報には卵白にチアミンラウリル硫酸塩を添加
して加熱殺菌する方法が示されている。

本発明は、これら従来技術にさらに改良を加え
た殺菌用組成物の提供を目的としている。すなわ
ち、特開昭54-145234号公報に記載され
た殺菌用組成物では、十分な効果を発揮するため
には有機酸類, 無機塩類およびアルコール類はそ
れぞれ所定濃度範囲(有機酸類は0.0/重量%以
上, 無機塩類は0.1/重量%以上, アルコール類は
0.2/重量%以上)で使用する必要があるとされ、
またTLSについても殺菌効果を奏するためには1

ばそれぞれの使用濃度では全く殺菌効果が得られないような低濃度であつても、これらを組合せることによつて顕著な殺菌力が得られるのである。

本発明者らは、前記特開昭54-145234号公報に記載された殺菌用組成物の殺菌力を増強すべく研究を重ねる過程において、該組成物とSLS~~および~~またはTLSを併用すると、予想外にも両者は相乗的に作用して殺菌力が増すばかりか、殺菌に必要とされる各成分の有効濃度を低減できることを見出し、本発明を完成するに至つたのである。

本発明は(a)有機酸類、(b)無機塩類、(c)エチルアルコールおよび(d)ラウリル硫酸ナトリウムまたはチアミンラウリル硫酸塩よりなる改良された殺菌用組成物である。

本発明に用いる有機酸類としては食酢、酢酸、フマル酸、フマル酸・ナトリウム、クエン酸、コハク酸、リンゴ酸、乳酸、酒石酸、グルコン酸等があげられ、これらの中では食酢、酢酸、フマ

後記するように、本発明の殺菌用組成物の各成分を単独でまたはSLSまたはTLSを除いた組成物として上記のような濃度で使用しても十分な殺菌効果が得られない。同様にSLSやTLSを10 ppm未満で用いても殺菌力が得られず、十分な殺菌効果を単独で発揮するには1%以上の濃度で用いる必要がある。しかし、250 ppm以上の濃度では殺菌力よりも界面活性剤の効果が生じ、組成物が泡立ち好ましくない。さらに、TLSの場合は特有の臭いを与える。また、使用後にSLSやTLSを除去するための洗浄工程を必要とすることとなる。

本発明の殺菌用組成物はエシエリヒア・コリ (*Escherichia coli*) IFO-3208、スタフィロコッカス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*) IFO-3060を供試菌として殺菌効果のあることを確認しており、グラム陽性菌およびグラム陰性菌のいずれに対しても有効であり、広範囲に亘る微生物に適用できる。本発明の殺菌用組成物は飲食品、調理器具等の殺菌に有用であり、特に柔かい果実、サラダ用野菜類など加熱殺菌が

ましい。

また無機塩類としては、NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂などがあり、NaClが好ましいものである。

本発明の殺菌用組成物は濃厚原液として調製しておくことが望ましく、このときの各成分の配合比は有機酸類の重量1に対して無機塩類は重量0.03-27、好ましくは重量0.33-3とし、エチルアルコールは重量2.2-3980、好ましくは重量20-180とする。またSLSやTLSは適量とする。そして、この殺菌用組成物の原液は使用に際して水にて希釈する。希釈後の各成分濃度は被殺菌物の種類、殺菌目的等を考慮して決定すべきであるが、一般的には有機酸塩類0.001-0.1重量%、無機塩類0.01-1重量%、エチルアルコール0.02-2重量%、SLSまたはTLS10-250 ppm程度を目安とすれば十分である。なお、原液を調製しておかないで、各成分を上記濃度となるように水に加え溶解して本発明の組成物とすることもできる。

不可能であり、しかも激しく洗浄すると商品価値が低下するものやまな板、包丁、布巾などのように使用頻度の高い食品用調理器具の洗浄、殺菌に適している。

次に、本発明を実験例および実施例により詳しく説明する。

実験例

被験菌(エシエリヒア・コリ IFO-3208またはスタフィロコッカス・アウレウス IFO-3060)をブイヨン培地(肉汁1%, ポリペプトン1%, 食塩0.5%, pH 7.2)10 mlで30℃、24時間振とう培養する。一方、殺菌用組成物および対照を蒸留水にて希釈して目的の濃度になるように調整して殺菌液をつくり、18×180 mmの試験管に各10 ml宛分注して綿栓し、100℃、5分間の殺菌処理を行い、30℃に冷却しておく。次に、前記の培養物を滅菌したピペットを用いて0.05 ml宛上記殺菌液の入った試験管に分注し、30℃で30分静置して殺菌処理を行う。

30分経過後、試験管内の殺菌液と培養物との

第 2 表

なお 組成物①で食酢の代りに酢酸，クエン酸，グルコ酸，コハク酸，リンゴ酸，乳酸，酒石酸，フマル酸，フマル酸・ノ－ナトリウムをそれぞれ使用し、食塩の代りに塩化カリウム (KCl)，塩化アンモニウム (NH_4Cl)，塩化マグネシウム ($MgCl_2$)，塩化カルシウム ($CaCl_2$) を使用した場合も同様の

* エチルアルコールは99.5容量%のものを使用
表から明らかなように、殺菌対象のない有機酸・食塩・アミンよりなる組成物にsterilityを添加し
合する場合、sterility单独使用では殺菌効果のない場合が多い。この際でも両者を組合せることによ
り殺菌力が発現した。

食塩・アルコールよりなる組成物にSLSを添加混合する場合、SLS単独使用では殺菌効果のない僅か10ppmの濃度でも両者を組合せることにより殺菌力が発現した。

第 4 表

試験区分	組 成		殺 菌 力 の 判 定	
	組 成 割 合	TLS添加量 (g)	最終容量 (ml)	エシエリヒア・コリ スタフィロコッカス・アウレウス
対 照 群	酢酸酸度10%の食酢0.85ml 食 塩 0.25g エチルアルコール* 1.67ml	無添加	1000	-
第1群	同 上	10	1000	+
第2群	同 上	1	1000	+
第3群	同 上	0.25	1000	+
第4群	同 上	0.1	1000	+
第5群	同 上	0.01	1000	+
第6群	同 上	0.001	1000	-

*エチルアルコールは99.5容量%のものである。

第 5 表

試験区分	組 成		殺 菌 力 の 判 定	
	組 成 割 合	TLS添加量 (g)	最終容量 (ml)	エシエリヒア・コリ スタフィロコッカス・アウレウス
対 照 群	酢酸酸度10%の食酢0.35ml クエン酸 0.35g 食 塩 0.19g エチルアルコール* 1.25ml	無添加	1000	-
第1群	同 上	10	1000	+
第2群	同 上	1	1000	+
第3群	同 上	0.25	1000	+
第4群	同 上	0.1	1000	+
第5群	同 上	0.01	1000	+
第6群	同 上	0.001	1000	-

*エチルアルコールは99.5容量%のものである。

第 3 表

試験区分	組 成		殺 菌 力 の 判 定	
	組 成 割 合	SLS添加量 (g)	最終容量 (ml)	エシエリヒア・コリ スタフィロコッカス・アウレウス
対 照 群	酢酸酸度10%の食酢0.35ml クエン酸 0.35g 食 塩 0.19g エチルアルコール* 1.25ml	無添加	1000	-
第1群	同 上	10	1000	+
第2群	同 上	1	1000	+
第3群	同 上	0.25	1000	+
第4群	同 上	0.1	1000	+
第5群	同 上	0.01	1000	+
第6群	同 上	0.001	1000	-

*エチルアルコールは99.5容量%のものである。

実施例 1

殺菌用組成物 (I)

クエン酸 0.35g, 酢酸酸度 10% の食酢 0.35 ml, 食塩 0.19g, エチルアルコール 1.25 ml およびラウリル硫酸ナトリウム 0.25g を混合し、純水に溶解し、最終容量を 1000 ml とした。

殺菌用組成物 (II)

クエン酸 0.35g, 酢酸酸度 10% の食酢 0.35 ml, 食塩 0.19g, エチルアルコール 1.25 ml およびチアミンラウリル硫酸塩 0.25g を混合し、純水に溶解し、最終容量を 1000 ml とした。

対 照

クエン酸 0.35g, 酢酸酸度 10% の食酢 0.35 ml, 食塩 0.19g およびエチルアルコール 1.25 ml を混合し、純水に溶解し、最終容量を 1000 ml とした。

被殺菌物の調製

生の胡瓜を水道水にて軽く洗浄後、両端を捨て去り、中央部を約 1.5 cm 巾でスライスした。

殺菌試験

上記スライス胡瓜 500 ml に室温にて 15 分間浸漬した。

15 分間浸漬後のスライス胡瓜および未殺菌のスライス胡瓜について、大腸菌群数を栄研デソキシコーレイト培地にて常法通り測定した。結果を第 6 表に示す。

第 6 表

スライス胡瓜の殺菌

試験区分	胡瓜 1g 当りの大腸菌群数 (個)
未 殺 菌	1.5×10^5
対 照	2.1×10^4
殺菌用組成物 (I)	10 以下
殺菌用組成物 (II)	10 以下

実施例 2

被験菌の培養

被験菌 エシエリヒア・コリ IFO-3208 およびスタフィロコッカス・アウレウス IFO-3060 をそれぞれブイヨン培地 (肉エキス 1%, ポリペプトン 1%, 食塩 0.5%, pH 7.2) を用いて、30°C で 24 時間培養した。

被殺菌物の調製

プラスチック製まな板 (25 cm²) を 70% エタノールで十分殺菌し、無菌的に乾燥した。このまな板に、上記 2 菌株の培養物を各 1 ml ずつ滴下し、無菌的に乾燥してまな板に被験菌を固着せしめて被殺菌物を調製した。このとき、まな板に固着した菌数は、エシエリヒア・コリは 1.8×10^8 / 25 cm², スタフィロコッカス・アウレウスは 6×10^6 / 25 cm² であった。

殺菌試験

室温 (23°C) で上記被殺菌物 1 個を、実施例 1 と同じ殺菌液 500 ml 中に浸し、15 分殺菌処理した。殺菌処理した上記被殺菌物を滅菌した綿

を用いるふきとり試験法で生菌数を測定した。生菌数測定用培地はエシエリヒア・コリには栄研デソキシコーレイト培地を用い、スタフィロコッカス・アウレウスにはブイヨン寒天培地 (肉エキス 1%, ポリペプトン 1%, 食塩 0.5%, pH 7.2, 寒天 1.5%) を用いた。結果を第 7 表に示す。

第 7 表

まな板の殺菌

試験区分	エシエリヒア・コリ (個)	スタフィロコッカス・アウレウス (個)
対 照	8.0×10^3	1.2×10^5
殺菌用組成物 (I)	10 以下	10 以下
殺菌用組成物 (II)	10 以下	10 以下

* 表中の数値はまな板 25 cm² 当りの生菌数を示す。

被験菌の培養

被験菌エシエリヒア・コリIFO-3208およびスタフィロコッカス・アウレウスIFO-3060をそれぞれブイヨン培地（肉エキス1%，ポリペプトン1%，食塩0.5%，pH7.2）を用いて、30℃で24時間培養した。

被殺菌液の調製

木綿製ふきん（10×10cm）を70%エタノールで十分殺菌し、無菌的に乾燥した。このふきんに上記2菌株の培養物を各1mlずつ滴下し、無菌的に乾燥してふきんに被験菌を固着せしめて、被殺菌物を調製した。このとき、ふきんに固着した菌数は、エシエリヒア・コリは $2.5 \times 10^7 / 100 \text{ cm}^2$ 、スタフィロコッカス・アウレウスは $1.5 \times 10^5 / 100 \text{ cm}^2$ であつた。

殺菌試験

室温（20℃）で上記被殺菌物1枚を実施例1と同じ殺菌液50ml中に浸し、5分間、殺菌処理した。殺菌処理した上記被殺菌物をよく絞り、殺

菌液を100mlの滅菌したリン酸緩衝食塩水液（リン酸水素二ナトリウム0.12%，リン酸二水素カリウム0.07%，食塩0.68%，pH7.0）とともによく振とうして洗い出し、生菌数を測定した。生菌数測定用培地はエシエリヒア・コリには栄研デソキシコーレイト培地を用い、スタフィロコッカス・アウレウスにはブイヨン寒天培地（肉エキス1%，ポリペプトン1%，食塩0.5%，pH7.2，寒天1.5%）を用いた。結果を第8表に示す。

第 8 表

ふきんの殺菌試験結果

	エシエリヒア・コリ (個)	スタフィロコッカス・ アウレウス (個)
対 照	6.1×10^2	3.5×10^4
殺菌用組成物(I)	10 以下	10 以下
殺菌用組成物(II)	10 以下	10 以下

*表中の数値はふきん100cm²当りの生菌数を示す。

(19) Patent Office of Japan (JP)

(11) Patent publication number 57176903

Shou 57-176903

(12) **PATENT PUBLICATION (A)**

(19) Patent Office of Japan (JP)

(43) Publicized date: Showa 57th year (1982) October 30th

(51)Int.Cl. ³	ID Code	Office control number
A01N 59/08		7731-4H
/(A01N 59/08		
37/00		6526-4H
31/00		6526-4H
41/04		7144-4H
43/78		

Number of invention 1
Examination is not requested

(Total 6 pages)

(54) Improved sterilizing composition

(21) Filing number:

Patent Application Shou 56-620170

(22) Filed date:

Showa 56th year (1981) April 24

(72) Inventor: Watanabe, Atsushi

11-306, Kenei Nagane Residence Naganecho
Handa City

(72) Inventor: Ooyama, Naotake

85-12 Aza Toi, Ooaza Fujie, Higashiurachou
Chitagun, Aichi Prefecture

(71) Assignee: Nakano Vinegar Co., Ltd.

2-6, Nakamuracho, Handa City

(74) Attorney:

Fujiro Kubota

Patent Specification

1. Title of invention

Improved sterilizing composition

2. Extent of the claim

Improved sterilizing composition
composed of (a) organic acids (b) inorganic
acids (c) ethyl alcohol and (d) sodium lauryl
sulfate or thiamine lauryl sulfate

3. Detailed explanation of the invention

This invention relates to a sterilizing
composition and in detail, a sterilizing
composition of which sterilizing property is
significantly improved by mixing sodium
lauryl sulfate (called as SLS, hereinafter) or
thiamine lauryl sulfate (called as TLS,

hereinafter) with a composition comprised
of organic acids, inorganic acids and ethyl
alcohol.

The applicant had already developed a
sterilizing composition made by mixing one
or two kinds of organic acid such as acetic
acid, citric acid, succinic acid, malic acid
and vinegar and inorganic acid such as
NaCL, KCL, MgCL₂ and CaCL₂ and alcohol
such as ethyl alcohol which is effective for
sterilizing such as food, beverage and
cooking utensils. (Patent Publication Shou
54-145234)

In Patent Publication Shou 51-45660, a
preservative and disease preventive for

citrus fruits which is a mixture of organic acid and its alkali metallic salt is disclosed and furthermore, in Patent Publication Shou 36-3482, acidic cleaner which is mixture of organic acid or inorganic acid, surfactant and butanol is described. In addition to this, in Patent Publication 55-16614, a method of thermal sterilization by adding thiamine lauryl sulfate to egg white is disclosed.

The objective of this invention is to provide a sterilizing composition wherein current technology is improved furthermore. In a sterilizing composition described in Patent Publication 54-145234, it is necessary to use organic acids, inorganic acids and alcohols in a specific range of concentration in order to exert the effect sufficiently, (more than 0.01 weight percent for organic acid, more than 0.1 weight percent for inorganic acid and more than 0.2 weight percent for alcohol). This is also the case for TLS in order to exhibit bactericidal effect and it is necessary to add more than 1 weight percent. However, according to this invention, significantly effective sterilization is obtained by combining the ingredients of low concentration which do not show effective sterilization when used alone.

During the process of the study to enhance bactericidal effect of the sterilizing composition described in above mentioned Patent Publication Shou 54-145234, the inventors discovered unexpectedly that by combining the said composition and SLS or TLS, both of them not only increase sterilization by working synergistically but also enable to reduce the effective concentration of each ingredient needed for sterilization and completed this invention.

This invention is a sterilizing composition comprised of (a) organic acids, (b) inorganic acids, (c) ethyl alcohol and (d) sodium lauryl sulfate or thiamine lauryl sulfate.

As for organic acids used in this inven-

tion, vinegar, acetic acid, fumaric acid, sodium fumaric acid, citric acid, succinic acid, malic acid, lactic acid, tartaric acid and gluconic acid are listed. Among those, vinegar, acetic acid, sodium fumaric acid and tartaric acid are preferable.

Also, as for inorganic acid, NaCl, KCl, $MgCl_2$, $CaCl_2$ and NaCl are preferable.

It is desirable that the sterilizing composition of this invention is prepared as a concentrated stock solution and the mixing ratio of inorganic acid salts in weight should be 0.03 to 27 against 1 weight of organic acid, preferably 0.33 to 3 and the weight of ethyl alcohol is 2.2 to 3980, preferably 20 to 180. Also, SLS and TLS should be decided appropriately. And when the stock solution of this sterilizing composition is used, it is diluted with water. The concentration of each ingredient after dilution should be decided by considering the kind of the object to be sterilized and the purpose of sterilization, however, it should be appropriate if referred to the general example of 0.001 to 0.1 weight percent organic acids, 0.01 to 1 weight percent inorganic acid salts, 0.02 to 2 weight percent ethyl alcohol and 10 to 250 ppm SLS or TLS. Furthermore, each ingredient can be added to water and dissolved so that each ingredient has above mentioned concentration to make the composition of this invention without preparing the stock solution.

As described later, using each ingredient of sterilizing composition of this invention independently or combining as a composition without SLS or TLS does not provide sufficient sterilizing effect. Similarly, bactericidal effect can not be obtained by using SLS and TLS at the rate of less than 10 ppm and it is necessary to use it at the concentration of higher than 1 % in order to exert sufficient sterilizing effect. However, with the concentration of more than 250 ppm, effect of surfactant intensifies rather than sterilizing which result in foaming of

the composition and it is not desirable. Furthermore, in case of TLS specific odor is emitted. Also, washing process would be needed in order to remove SLS and TLS after the use.

It is confirmed that the sterilizing composition of this invention has bactericidal effect when used against *Escherichia coli* IFO-3208 and *Staphyrococcus aureus* IFO-3060, it is also effective against Gram-positive bacteria and Gram-negative bacteria and can be applied against wide range microorganism. The sterilizing composition of this invention is useful in sterilizing beverage, food and cooking tools and especially soft fruit and vegetables for salad which can not be sterilized by heating and object of which value is reduced by washing vigorously and also it is suitable for washing and sterilizing frequently used utensils for food such as cutting board, knife and dish cloth.

Following is more detailed explanation of this invention by experimental example and application example.

Experimental Example

The bacteria (*Escherichia coli* IFO-3208 or *Staphyrococcus aureus* IFO-3060) is put into 10 ml bouillon culture medium (1% bouillon, 1% polypeptone, 0.5% salt, pH7.2) and shaking-cultured for 24 hours at 30°C. On the other hand, sterilizing composition and control are diluted with distilled water and adjusted to the desired concentration and a sterilizing solution is prepared and 10 ml solution is poured into each test tube and the tube is capped with cotton and the solution is sterilized at 100°C for 5 minutes and cooled to 30°C. Then, by using sterilized pipet, above described culture is put into the test tubes which have 0.05 ml of sterilizing solution and sterilized at 30°C by leaving for 30 minutes.

After 30 minutes, the mixed solution of sterilizing solution and the culture is taken

into a Petri dish by a sterilized pipet (if necessary, a solution is prepared by diluting with sterilized water). Then, standard agar culture medium by Eiken is poured into this and incubated at 30°C for 48 hours. After the completion of incubation, existence of bacteria growth was observed visually. If no bacteria growth was observed in the sterilized solution that was 0 bacteria concentration per ml, it was considered to have sterilizing effect and marked with + and the ones which had bacteria growth which meant there were more than one bacteria per ml, is considered to have no sterilizing effect and marked with -. The result is shown in Table 1 to 5.

Table 1

Amount in 1,000 ml solution	dilution rate	sterilizing effect
(1) vinegar of 10% acetic acid 33ml	1x	+
salt 10g	10x	+
ethyl alcohol 66.7ml (99.5 volumetric %)	40x	-
(2) vinegar of 10% acetic acid 12.5ml	1x	+
citric acid 1.25g	10x	+
salt 7.5g	40x	-
ethyl alcohol 50ml (99.5 volumetric %)		
(3) SLS 5g	1x	-
	40x	-
(4) TLS 5g	1x	-
	40x	-

Similar result was obtained in the composition (1) when vinegar was replaced with acetic acid, citric acid, gluconic acid, succinic acid, malic acid, lactic acid, tartaric acid, fumaric acid and sodium fumaric acid and salt was replaced with potassium chloride (KCL), ammonium chloride (NH₄CL), magnesium chloride (MgCL₂), and calcium chloride (CaCL₂).

Also, similar result was obtained in the composition (2) when the vinegar was replaced with acetic acid, gluconic acid, succinic acid, malic acid, lactic acid, tartaric acid, fumaric acid and sodium fumaric

acid•1 and citric acid was replaced with acetic acid, gluconic acid, succinic acid, malic acid, lactic acid, tartaric acid, fumaric acid and sodium fumaric acid•1 as far as it did not duplicate above mentioned organic

acid and salt was replaced with potassium chloride (KCL), ammonium chloride (NH₄CL), magnesium chloride (MgCL₂), and calcium chloride (CaCL₂).

Table 2

Test category	Composition			Judgement of sterilizing effect	
	Composition rate	Volume of added SLS	Final volume (ml)	Escherichia coli	Staphyrococcus aureus
Control group	vinegar of 10% acetic acid 0.85ml salt 0.25g ethyl alcohol 1.67ml	none	1000	-	-
Group 1	same as above	10	1000	+	+
Group 2	same as above	1	1000	+	+
Group 3	same as above	0.25	1000	+	+
Group 4	same as above	0.1	1000	+	+
Group 5	same as above	0.01	1000	+	+
Group 6	same as above	0.001	1000	-	-

*Used ethyl alcohol was 99.5 volumetric percent

As it is obvious from the table, when SLS was added to the composition comprised of organic acid-salt-alcohol which did not have sterilizing effect, combining both

SLS and composition created the sterilizing power with the concentration of mere 10 ppm while SLS did not have sterilizing effect when it was used alone.

Table 3

Test category	Composition			Judgement of sterilizing effect	
	Composition rate	Volume of added SLS	Final volume (ml)	Escherichia coli	Staphyrococcus aureus
Control group	vinegar of 10% acetic acid 0.35ml citric acid 0.35g salt 0.19g ethyl alcohol 1.25ml	none	1000	-	-
Group 1	same as above	10	1000	+	+
Group 2	same as above	1	1000	+	+
Group 3	same as above	0.25	1000	+	+
Group 4	same as above	0.1	1000	+	+
Group 5	same as above	0.01	1000	+	+
Group 6	same as above	0.001	1000	-	-

*Used ethyl alcohol was 99.5 volumetric percent

Table 4

Test category	Composition			Judgement of sterilizing effect	
	Composition rate	Volume of added TLS	Final volume (ml)	Escherichia coli	Staphyrococcus aureus
Control group	vinegar of 10% acetic acid 0.85ml salt 0.25g ethyl alcohol 1.67ml	none	1000	-	-
Group 1	same as above	10	1000	+	+
Group 2	same as above	1	1000	+	+
Group 3	same as above	0.25	1000	+	+
Group 4	same as above	0.1	1000	+	+
Group 5	same as above	0.01	1000	+	+
Group 6	same as above	0.001	1000	-	-

*Used ethyl alcohol was 99.5 volumetric percent

Table 5

Test category	Composition			Judgement of sterilizing effect	
	Composition rate	Volume of added TLS	Final volume (ml)	Escherichia coli	Staphyrococcus aureus
Control group	vinegar of 10% acetic acid 0.35ml citric acid 0.35g salt 0.19g ethyl alcohol 1.25ml	none	1000	-	-
Group 1	same as above	10	1000	+	+
Group 2	same as above	1	1000	+	+
Group 3	same as above	0.25	1000	+	+
Group 4	same as above	0.1	1000	+	+
Group 5	same as above	0.01	1000	+	+
Group 6	same as above	0.001	1000	-	-

*Used ethyl alcohol was 99.5 volumetric percent

Application Example 1

Sterilizing composition (I)

0.35g citric acid, 0.35 ml vinegar of 10% acetic acid, 0.19g salt, 1.25 ml ethyl alcohol and 0.25g sodium lauryl sulfate were combined and dissolved into pure water and a composition of final volume 1000 ml was obtained.

Sterilizing composition (II)

0.35g citric acid, 0.35 ml vinegar of 10% acetic acid, 0.19g salt, 1.25 ml ethyl alcohol

and 0.25g thiamine lauryl sulfate were combined and dissolved into pure water and a composition of final volume 1000 ml was obtained.

Control

0.35g citric acid, 0.35 ml vinegar of 10% acetic acid, 0.19g salt, 1.25 ml ethyl alcohol were combined and dissolved into pure water and a composition of final volume 1000 ml was obtained.

Preparation of object to be sterilized

Fresh cucumber was washed lightly with tap water, its edges were cut off and discarded and the center part was sliced in 1.5mm wide.

Sterilizing test

250 g of above mentioned sliced cucumber was soaked in 500 ml of above mentioned sterilizing composition at a room temperature for 15 minutes.

Number of colon bacillus group of the sliced cucumber which was soaked for 15 minutes and not soaked, was measured by a normal method using Eikin Desoxycholate agar. The result is shown in Table 6.

Table 6

Sterilization of sliced cucumber

Test category	No of colon bacillus group (piece) per 1 g cucumber
non steriized	1.5×10^5
control	2.1×10^4
sterilizing composition (I)	less than 10
sterilizing composition (II)	less than 10

Application Example 2

Culturing the bacteria to be tested

Escherihia coli IFO-3208 and Staphyrococcus coli IFO-3060 were incubated independently by using bouillon culture medium (bouillon 1%, polypeptone 1%, salt 0.5%, pH 7.2) at 30°C for 24 hours.

Preparation of the object to be sterilized

Plastic cutting board (25 cm²) was sterilized thoroughly with 70% ethanol and dried in the atmosphere free of bacteria. Culture of above mentioned two kinds of bacteria was dropped on this cutting board and dried and bonded to the cutting board in bacteria free atmosphere and the object to be sterilized was prepared. Number of Escherichia coli bonded to the cutting board was $1.8 \times 10^8/25\text{cm}^2$, number of Staphyrococcus aureus was $6 \times 10^6/25\text{cm}^2$.

coccus aureus was $6 \times 10^6/25\text{cm}^2$.

Sterilizing test

One piece of above mentioned object to be sterilized was soaked in 500 ml sterilizing solution which was the same with Application Example 1 at a room temperature (23°C) and sterilized for 15 minutes. The sterilized, above mentioned object to be sterilized was wiped by a wiping test method which uses sterilized cotton and the number of live bacteria was measured. For culture medium to measure live bacteria, Eiken Desoxycholate agar was used for Escherichia coli and bouillon culture medium (1% bouillon, 1% polypeptone, 0.5% salt, pH 7.2, 1.5% agar) was used for Stephyrococcus. The result is shown in Table 7.

Table 7

Sterilization of cutting board

test category	Escherichia coli (piece)	Staphyrococcus aureus (piece)
control	8.0×10^3	1.2×10^5
sterilizing composition	less than 10	less than 10
sterilizing composition (II)	less than 10	less than 10

*The number in the table shows live bacteria per 25 cm² of the cutting board.

Application Example 3

Culturing the bacteria to be tested

Escherihia coli IFO-3208 and Staphyrococcus coli IFO-3060 were incubated independently by using bouillon culture medium (bouillon 1%, polypeptone 1%, salt 0.5%, pH 7.2) at 30°C for 24 hours.

Preparation of the solution to be sterilized

Cotton dish cloth (10 x 10 cm) was sterilized thoroughly with 70% ethanol and dried in bacteria free atmosphere. The culture of above mentioned two kinds of bacteria was put on this cloth and dried and adhered to the cloth in bacteria free atmos-

phere and the object to be sterilized was prepared. The number of Escherichia coli adhered to the cloth was $2.5 \times 10^7/100\text{cm}^2$ and the number of Staphyrococcus aureus was $1.5 \times 10^5/100\text{cm}^2$.

Sterilizing test

One sheet of dish cloth which was mentioned above was soaked in 50 ml sterilizing solution same with Application Example 1 at a room temperature (20°C) and sterilized for 5 minutes. Sterilized, above mentioned cloth was squeezed well to remove sterilizing solution. Then, it was washed by shaking in a sterilized clinical cup with 100 ml sterilized aqueous solution of phosphoric acid buffering salt aqueous solution (0.12% sodium dihydrogenphosphate, 0.07% potassium dihydrogenphosphate, 0.68% salt, pH 7.0) and live bacteria was counted. For culture medium to measure live bacteria, Eiken Desoxycholate agar was used for Escherichia coli and bouillon agar (1% meat bouillon, 1% polypepetone, 0.5% salt, 7.2 pH and 1.5 % agar) was used for Staphyrococcus aureus. The result is shown in Table 8.

Table 8
Result of sterilization test of dish cloth

	Escherichia coli (pieces)	Stphyrococcus aureus (pieces)
Control	6.1×10^2	3.5×10^4
Sterilizing composition (I)	less than 10	less than 10
Sterilizing composition (II)	less than 10	less than 10

* Value in the table show the number of live bacteria per 100 cm²